

BEST AVAILABLE COPY

JP 2000-319191

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a medicinal composition not causing a side effect, comprising a combination of several kinds of natural medications capable of chronically being used for a long term, and having reliable efficacy and useful cGMP-PDE inhibitory activity.

SOLUTION: This cGMP specific phosphodiesterase inhibitor is formulated with one or a combination of at least two selected from the group consisting of dry matter of leaves and stalks of plants belonging to the genus *Epimedium*, *Acanthopanax sintococcus* (Rupr. et Maxim.) Harms, *Scutellariae Radix*, *Phellodendri Cortex*, *phocae thstis et penis*, seahorse, guarana, *Glycyrrhiza glabra* L. var. *glandulifera* Regel et Herder, seeds of *Juglaus regia* L. var. *sinensis* DC., *cynomorii herba*, *Gardeniae Fructus*, *syakanzou*, *Torilis japonica* DC., *lingustri fructus* [L], *vagina ovorum mantidis*, *Panacis Japonici Rhizome*, *Anemarrhenae Rhizoma*, *Angelica pubescens forma bisserata* SHAN et YUAN, leaves of *Eucommia ulmoides* Oliver, pseudocarps of *Rubus coreanus* Miq., *psoraleae semen*, *Amomi Amari Fructus*, *Ephedrae Herba*, *Asiasari Radix*, *nardostachyos rhizoma*, *perilla herb*, *Cinnamomi Cortex* (cassia bark), leaves of *Artemisia princeps* Pamp., *Magnoliae Cortex*, *Magnoliae*

officinalis Rehd.et Wils., dry matter of entire plant of Bupleurum
chinense, Phyllostachys nigra Munro var.henonis Stapf.ex Rendle,
Cyperi Rhizoma, Evodiae Fructus, Coptidis Rhizoma and Aurantii
Immaturi Fructus.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-319191

(P2000-319191A)

(43) 公開日 平成12年11月21日 (2000. 11. 21)

(51) Int.Cl.	識別記号	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	W 4 C 0 8 8
A 6 1 P 15/10		31/00	6 1 5 G
43/00			6 4 3 D

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願平11-135935

(22) 出願日 平成11年5月17日 (1999. 5. 17)

(31) 優先権主張番号 特願平11-59473

(32) 優先日 平成11年3月5日 (1999. 3. 5)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000002934

武田薬品工業株式会社

大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

(72) 発明者 奥野 憲治

大阪府池田市五月丘5丁目1番3号

(72) 発明者 樽井 直樹

奈良県奈良市三碓1丁目6番1号

(72) 発明者 秋元 浩二

東京都世田谷区深沢8丁目6番4号

(74) 代理人 100062144

弁理士 青山 葆 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 サイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤および性的機能障害改善薬

(57) 【要約】

【課題】 副作用のない、穏やかで長期連用が可能な数種類の生薬の組み合わせからなる、確実な効果を有する有用なcGMP-PDE阻害活性を有する医薬組成物の提供。

【解決手段】 インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンソウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカンソウ、ジョテイシ、ソウヒョウショウ、チクセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウ、フクボンシ、ヤクチニン、マオウ、サイシン、カンショウキョウ、ソヨウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクジョ、コウブシ、ゴシュユ、オウレンおよびキジツの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカンゾウ、ジョテイシ、ソウヒョウショウ、チクセツニンジン、チモ、ドツカツ、トチュウヨウ、フクボンシ、ヤクチニン、マオウ、サイシン、カンショウキョウ、ソヨウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクジョ、コウブシ、ゴシュユ、オウレンおよびキジツの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤。

【請求項2】 インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカンゾウ、ジョテイシ、ソウヒョウショウ、チクセツニンジン、チモ、ドツカツ、トチュウヨウ、フクボンシおよびヤクチニンの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤。

【請求項3】 請求項1又は2に記載のサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤を含有する医薬組成物。

【請求項4】 請求項1又は2に記載のサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤を含有する性的機能障害改善用組成物。

【請求項5】 経口用である請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項6】 経口用である請求項4に記載の性的機能障害改善用組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、サイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ (cGMP-PDE) に起因する種々の機能障害や疾病症状を改善する生薬配合組成物に関する。特に、陰茎海綿体動脈中に特異的に存在するサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ (cGMP-PDE) を阻害することで、海綿体動脈を弛緩させ、老化やストレス、糖尿病など種々の病気による機能的異常により引き起こされた性的機能障害の改善に有用な生薬配合医薬組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】 サイクリックグアノシン3',5'-リン酸 (cGMP) は、生体内において細胞内情報伝達機構の2次伝達物質として重要な役割を果たしており、種々の細胞における機能発現の調節に関与している。cGMP-PDEの阻害剤は、細胞内のcGMP濃度を上昇させると考えられ、cGMP濃度の上昇は、平滑筋の弛緩、平滑筋細胞の増殖阻害、血球の内皮細胞への粘着阻害、血小板凝集阻害、感覚細胞におけるcGMP特異的イオンチャンネルによるカリウムイオンおよびカルシウムイオンの流出の増加、上皮

細胞におけるナトリウムイオン流出促進とそれに伴う利尿作用と腎臓におけるナトリウムの排出促進、胃腸管における液体および電解質の流出などをもたらすことが知られている。また、cGMPは、心筋細胞においては、カリウムイオンおよびカルシウムイオンの流入の調節にも関与していると考えられている。したがって、cGMP-PDEの阻害剤は、狭心症、高血圧、心筋梗塞、動脈硬化などの循環器系疾患や、喘息や気管支炎などの閉塞性肺疾患、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、じんましんなどのアレルギー性疾患、過敏性腸症候群などの消化管の運動性に特徴づけられる疾患、緑内障、勃起機能不全、雌性機能不全等の性的機能障害の予防および治療などに用いることが出来る。また、内皮由来弛緩因子 (EDRF)、ニトロ系血管拡張薬、心房性ナトリウム利尿ペプチドの効果に対する増強作用も期待できる。これまでにcGMP-PDE阻害剤としては、ザプリナスト (Zaprinast)、E-4021、シルデナフィル (Sildenafil) などの縮合ピリミジン誘導体およびその類縁化合物が報告されている。(E. Sybertz and M. Czarniecki, Expert Opinion on Therapeutic Patents, 7, 631-639 (1997); M. Czarniecki, et. al., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 31, 61-70 (1996); 特開平10-120681号公報など)。

【0003】 また、従来より、伝統的漢方処方などのような数種類の生薬を配合した医薬組成物により、様々な理由による勃起不全障害や性欲減退、性的不感症など性的機能障害の治療が試みられてきた。また、これらの処方では、単に性的障害の治療にとどまらず、易疲労感、食欲不振、下痢などの消化機能障害、冷え症、排尿障害、不正性器出血など、老化や極度の疲労時、虚弱体質などに伴う様々な障害の治療も目的としてきた。これらの漢方処方を含む生薬製剤は、化学薬品に見られるような副作用がほとんどなく、穏やかで持続的な効果をもたらすが、作用機序が明確でなく、また、確実な効果をもたらすわけでは必ずしもない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、副作用のない、穏やかで長期運用が可能な数種類の生薬の組み合わせからなる、確実な効果を有する有用なcGMP-PDE阻害活性を有する医薬組成物を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカンゾウ、ジョテイシ、ソウヒョウショウ、チクセツニンジン、チモ、ドツカツ、トチュウヨウ、フクボンシ、ヤクチニン、マオウ、サイシン、カンショウキョウ、ソヨウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクジョ、コウブシ、ゴシュユ、オウレンおよびキジツに強いcGMP-PDE阻害活性を見出し、この知見に基づいて本発明を完成するに至

った。

【0006】すなわち、本発明は、

(1) インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカンゾウ、ジョテイシ、ソウヒョウショウ、チクセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウ、フクボンシ、ヤクチニン、マオウ、サイシン、カンショウキョウ、ソヨウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクジョ、コウブシ、ゴシュユ、オウレンおよびキジツの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤；

(2) インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカンゾウ、ジョテイシ、ソウヒョウショウ、チクセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウ、フクボンシおよびヤクチニンの一つまたは二つ以上の組み合わせを配合してなるサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤；

(3) 前記(1)又は(2)に記載のサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤を含有する医薬組成物；

(4) 前記(1)又は(2)に記載のサイクリックGMP特異的ホスホジエステラーゼ阻害剤を含有する性的機能障害改善用組成物；

(5) 経口用である前記(3)に記載の医薬組成物；

(6) 経口用である前記(4)に記載の性的機能障害改善用組成物；に関するものである。

【0007】本発明の生薬としては、インヨウカク、オウゴン、オウバク、ジャショウシ、ホコツシ、エゾウコギ、カイクジン、カイバ、ガラナ、カンゾウ、コトウニン、サヨウ、サンシシ、シャカンゾウ、ジョテイシ、ソウヒョウショウ、チクセツニンジン、チモ、ドッカツ、トチュウヨウ、フクボンシおよびヤクチニンのグループ、若しくはこれらのグループに更にマオウ、サイシン、カンショウキョウ、ソヨウ、ケイヒ、ガイヨウ、コウボク、チクヨウ、チクジョ、コウブシ、ゴシュユ、オウレンおよびキジツを加えたグループの中から選ばれた一つまたは二つ以上組み合わせの生薬が挙げられる。ここで、上記コウボクには、ワコウボクおよびカラコウボクのいずれも含まれる。また、ケイヒには、いわゆるケイシも含まれる。

【0008】上記グループのうち、より好ましい成分としてはインヨウカク、ジャショウシ、ホコツシ、カイクジン、カイバ、サヨウ、ソウヒョウショウ、フクボンシ、ケイヒ、ガイヨウ、コウブシ、ゴシュユおよびオウレンが挙げられる。これらもまた同様に、一つまたは二つ以上の組み合わせで用いることができる。

【0009】後述する試験例の結果から明らかとなり

本発明の生薬はいずれもcGMP-PDE阻害活性を示すものであるが、これらは、古来単味又は漢方方剤として薬用されてきたものであり、それぞれ慣用された方法にしたがって得られる生薬末又は抽出成分をそのまま用いることができる。生薬末又は抽出成分の形態も、通常の市販品又はその加工品を使用することができる。生薬末としては、例えば、乾燥刻み加工品を更に細かく粉碎した粉末状（微粉末状）の乾燥品として使用してもよい。また、本発明の生薬からの抽出成分の形態は特に制限されるものではなく、例えば乾燥エキス、エキス末、軟エキス、流エキス、エタノール又はエタノールと水を含むチンキ等いずれの形態でも使用できる。好ましい本発明の生薬には、製剤化の自由度の高い抽出成分、例えば乾燥エキス末などが含まれる。

【0010】抽出は、慣用の方法、例えば、抽出溶媒により前記生薬から活性成分を抽出することより行うことができる。抽出溶媒としては、例えば水、親水性溶媒又はこれらの混合物を使用する場合が多い。前記親水性溶媒には、例えばメタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール、イソブタノール、s-ブタノール、t-ブタノール等のアルコール類；メチルセロソルブ、エチルセロソルブなどのセロソルブ類；アセトンなどのケトン類；ジオキサン、テトラヒドロフランなどのエーテル類；ピリジン、モルホリン、アセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチルピロロリンなどの含窒素溶媒などが挙げられる。これらの親水性溶媒は、単独又は2種以上の混合溶媒として使用してもよい。

【0011】特に、cGMP-PDEに対して高い阻害作用を有する成分を効率よく抽出するためには、例えば、イメタノール、エタノールなどの炭素数1～3程度の水溶性アルコール（特にエタノール）またはこれらのアルコール（特にエタノール）と水との混合溶液を抽出溶媒として用いるのが有用である。水と親水性溶媒との混合溶媒を前記抽出溶媒として使用する場合は、水と親水性溶媒との割合は、広い範囲、例えば、水/親水性溶媒=95/5～5/95（重量比）程度の範囲から適当に選択できる。好ましい割合は、例えば、水/親水性溶媒=90/10～50/50（重量比）、特に85/15～60/40（重量比）程度である。このような溶媒は、本発明の生薬に対して1～100重量部を抽出に使用する。好ましくは5～50重量部、更に好ましくは、5～20重量部である。

【0012】抽出操作は、適当な温度、例えば、10℃～溶媒の還流温度、好ましくは15～70℃程度で行うことが出来、室温で冷浸抽出することもできる。抽出時間は、加熱抽出の場合、30分間以上、好ましくは30分間～2時間、更に好ましくは1～2時間である。また、冷浸抽出の場合は、3日間以上、好ましくは3～30日間、更に好ましくは5～14日間である。

【0013】抽出溶媒により抽出された抽出液は、その

まま使用してもよく、水などで希釈してもよく、抽出したエキスを濃縮した濃縮エキスとしても使用できる。通常、抽出液を濃縮した濃縮エキス、抽出物に必要により添加剤を添加して、スプレードライ、凍結乾燥などの方法により粉末化した乾燥エキスとして使用する場合が多い。

【0014】本発明の生薬の使用量は、cGMP-PDEに対する阻害活性が発現する有効量であればよく、剤形、投与経路、年齢、性的機能障害の程度や種類などにより異なるが、例えば、投与単位あたりおよび成人1日あたり、乾燥エキス換算で、0.1~5,000mg、好ましくは1~2,000mg、さらに好ましくは10~500mgになるように使用される。1日の投与回数は特に制限されず、1回又は数回に分けて投与できる。

【0015】本発明の生薬には、更に副成分としてトチュウ、ニンジン、ロクジョウ、ジオウ、サンヤク、サンシュユ、タクシャ、ブクリョウ、ボタンピ、ブシ、オンジ、ゴミシ、クコシ、トシシ、ニクジュヨウ等の生薬を配合することもできる。これら副成分は、例えばトチュウ、ニンジンおよびロクジョウの組み合わせ、ジオウ、サンヤク、サンシュユ、タクシャ、ブクリョウ、ボタンピおよびブシの組み合わせのように組合せて、本発明の生薬に配合するのが好ましい。この場合の本発明の生薬に対する副成分の配合比率は、1:1~20（乾燥エキス換算重量比）、好ましくは1:1~10、更に好ましくは1:1~5である。

【0016】本発明の医薬組成物は、製剤の形態に応じて、例えば、混和、混練、造粒、打錠、コーティング、滅菌処理、乳化などの慣用の方法で製造することができる。これらの製剤の製造に関しては、日本薬局方製剤総則の各項に準じて製造することができる。本発明の医薬組成物は通常経口的に投与されるが、この場合の医薬組成物の形態は特に制限されるものでなく、例えば、錠剤、顆粒剤、細粒剤、丸剤、カプセル剤、チュアブル剤などの固形製剤、場合によっては、シロップ剤、懸濁剤、乳剤などの液剤であってもよい。

【0017】製剤の調製には、製剤の種類に応じて慣用の担体成分が使用できる。例えば、固形製剤の調製には、慣用成分、例えば、デンプン、乳糖、ショ糖、マンニトール、コーンスターチなどの糖類、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロース、軽質無水ケイ酸などの賦形剤；ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリビニルエーテル、エチルセルロース、アラビアゴム、トラガント、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、クエン酸カルシウム、デキストリン、ペクチンなどの結合剤；ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク、ポリエチレングリコール、コロイドシリカ等の滑沢剤；デンプン、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロー

スナトリウムなどの崩壊剤、崩壊補助剤、保湿剤、界面活性剤などが使用できる。

【0018】液剤の調製には、慣用成分、例えば、注射用水、水、エチルアルコール、エチレングリコールなどの溶剤、エタノール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、D-マンニトール、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムなどの溶解補助剤、ステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、レシチン、モノステアリン酸グリセリンなどの界面活性剤；ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどの親水性高分子などの懸濁化剤；リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、クエン酸塩などの緩衝剤、ブドウ糖、アミノ酸などを使用することができる。

【0019】前記固形製剤や液剤には、必要に応じて、保存剤、可溶化剤、乳化剤、分散剤、増粘剤、可塑剤、吸着剤、香料、着色剤、矯味矯臭剤、甘味剤、防腐剤、抗酸化剤などを使用することができる。

【0020】本発明の医薬および医薬組成物は、古来より薬用に用いられてきた生薬成分を主成分として用いるため、毒性や副作用がなく、きわめて安全性の高いものであり、ヒトを含む哺乳動物に安全に投与できる。本発明の医薬はcGMP-PDEに起因する種々の機能障害や疾患症状の改善に有効であり、特に、種々の原因による勃起機能不全など性機能障害の治療に有効である。

【0021】

【発明の実施の形態】以下、実施例を挙げて本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例により限定されるものではない。

【0022】

【実施例】生薬乾燥エキス

以下の実施例で用いる生薬は、刻み50gに約7倍量（すなわち350ml）の30容量%エタノール水溶液を添加し、30 r. p. m. で攪拌しながら50℃で1.5時間抽出した。標準篩（呼び寸法75 μ m）を用いて濾過し、残渣を30容量%エタノール水溶液150mlで洗浄した。回収した濾液と洗浄液を合わせて、吸引濾過した。回収濾液を温度50℃以下で約50mlとなるまで減圧濃縮して、軟エキスを得た。この軟エキスを24時間凍結乾燥して、乾燥エキス末を得て、これを用いた。各々の用量はこのエキス末の重量を示す。

【0023】実施例1（製剤例・処方例）

以下、本発明の好ましい製剤例を記載するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、下記例において特に断らない限り、各成分の配合量は成人1日服用量を示し、常法に従い製剤化するものとする。

【0024】[製剤例1]

(処方)

成人1日服用量（3包中）

インヨウカク乾燥エキス末	500mg
ジャショウシ乾燥エキス末	100mg
カンゾウ乾燥エキス末	200mg
ケイヒ乾燥エキス末	200mg
ガイヨウ乾燥エキス末	300mg
クコシ乾燥エキス末	300mg
ニクジュヨウ乾燥エキス末	500mg
結晶セルロース	1,200mg
デンプン	500mg
ヒドロキシプロピルセルロース	180mg
乳糖	520mg

合計 4,500mg

上記処方に従い、混合末を製し、日本薬局方製剤総則、顆粒剤の項に準じて顆粒剤を製造した。

【0025】〔製剤例2〕

(処方)

成人1日服用量 (3包中)

インヨウカク乾燥エキス末	500mg
ホコツシ乾燥エキス末	500mg
オウゴン乾燥エキス末	200mg
チクセツニンジン乾燥エキス末	200mg
シャカンゾウ乾燥エキス末	200mg
サヨウ乾燥エキス末	200mg
トシシ乾燥エキス末	150mg
オンジ乾燥エキス末	150mg
結晶セルロース	900mg
デンプン	600mg
ヒドロキシプロピルセルロース	180mg
乳糖	720mg

〔製剤例4〕

(処方)

トチュウ乾燥エキス末	60mg
ニンジン乾燥エキス末	100mg
ロクジョウ乾燥エキス末	100mg
インヨウカク乾燥エキス末	100mg
ホコツシ乾燥エキス末	200mg
ケイヒ乾燥エキス末	100mg
精製白糖	3,000mg
パラオキシ安息香酸ブチル	7.5 mg
フレーバー	0.06ml
水酸化ナトリウム	適量

精製水 (加えて全量)

上記処方に従い、日本薬局方製剤総則、液剤の項に準じて液剤を製造した。濾過した後、滅菌してガラスビンに充填した。

【0029】試験例

本発明の生薬のホスホジエステラーゼに対する阻害活性を、公知の方法 (Thompson, W. J. ら, Biochemistry 10, 311 (1971), J. D. Johnson ら, Anal. Chem. 162, 291 (1987), R. J. Schilling ら, Anal. Chem. 216, 154 (1994), Phosphodiesterase [³H]cGMP SPA enzyme assay kit

合計 4,500mg

上記処方に従い、日本薬局方製剤総則、顆粒剤の項に準じて顆粒剤を製造した。

【0026】〔製剤例3〕

〔素錠〕

(処方)

成人1日服用量 (9錠中)

インヨウカク乾燥エキス末	500mg
カイクジン乾燥エキス末	100mg
カイバ乾燥エキス末	100mg
ソウヒョウショウ乾燥エキス末	100mg
カンゾウ乾燥エキス末	200mg
結晶セルロース	444mg
デンプン	295mg
ヒドロキシプロピルセルロース	103mg
ステアリン酸マグネシウム	20mg
乳糖	700mg

小計 2,562mg

【0027】〔糖衣錠〕

素錠	2,544 mg
タルク	1,141.1mg
アラビアゴム	75.3mg
酸化チタン	46.3mg
白糖	1,104.3mg

合計 4,911mg

上記処方に従い、日本薬局方製剤総則、錠剤の項に準じて素錠および糖衣錠を製造した。

【0028】

成人1日服用量 (60ml中)

60mg
100mg
100mg
100mg
200mg
100mg
3,000mg
7.5 mg
0.06ml
適量

60ml

(アマシャム社) などに準じた以下の方法に従って測定した。

【0030】(1) ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードする遺伝子のクローニング

cDNAのクローニングは、ジーントラップポジティブ選択システム (ギブコビーアールエル社) を用いて行った。選択した大腸菌を培養後、DNAを抽出し、Thermo Sequenase Core Sequencing Kit (アマシャム社) を用いて反応を行い、SQ-3000 DNAシーケンサー (日立社) に

より、cDNA断片の塩基配列を決定した。取得したクローンは、配列番号：2で表される2499個の塩基配列を含有する3036個の塩基配列を有していた。このcDNA断片には、配列番号：1で表される833個のアミノ酸からなる新規ホスホジエステラーゼVがコードされていた。また、公知のウシ由来ホスホジエステラーゼV (Linda M. McAllisterら、J. Biol. Chem. 268 (30)、22869 (1993)、NCBI GenBank Accession No. L16545) とのアミノ酸レベルでの相同性は92%であった。本発明のヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードするプラスミドpPDE50を大腸菌 (*Escherichia coli*) DH10Bに導入して、形質転換体：大腸菌 (*Escherichia coli*) DH10B/pPDE50を得た。

【0031】(2) 大腸菌発現ベクターの構築

上記(1)で得られたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードするcDNAをEcoRIとXhoIで切断し、同様に処理したpGEX4T-2 (ファルマシア社) とライゲーションした。ライゲーション液を用いて大腸菌BL21 (フナコシ社) を形質転換し、本発明のヒト肺由来ホスホジエステラーゼVを発現する大腸菌 (*Escherichia coli*) BL21/pPDE51を取得した。

この形質転換体：大腸菌 (*Escherichia coli*) BL21/pPDE51は、平成10年7月13日から通商産業省工業技術院生命工学工業研究所 (NIBH) に寄託番号FERM BP-6417として、平成10年6月18日から財団法人・醗酵研究所 (IFO) に寄託番号IFO 16185として寄託されている。

【0032】(3) 組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVの大腸菌での発現と精製

上記(2)で得られた大腸菌 (*Escherichia coli*) BL21/pPDE51を用いて、本発明の組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVを取得した。大腸菌での発現および精製はGST Gene Fusion System (ファルマシア社) 添付のプロトコールに準じて行った。その結果、目的の約100kDaの組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVが1Lの大

腸菌培養液から、12.5mg取得できた。

【0033】(4) ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVのホスホジエステラーゼ活性の検出

ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVのホスホジエステラーゼ活性の検出は、Phosphodiesterase [³H] cGMP SPA enzyme assay kit (アマシャム社) を用いて行った。その結果、上記(2)で得た酵素溶液にホスホジエステラーゼ活性が認められた。また、pGEX4T-2をBL21に形質転換したものをコントロールとして用いたが、これにはホスホジエステラーゼ活性は認められなかった。

【0034】(5) 阻害剤探索系の設定

96穴プレート (OPTIプレート、パッカード社) に緩衝液 (0.5M Tris-HCl (pH7.5)、83mM MgCl₂、17mM EGTA) 10μL、上記(3)で得られた組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼV (0.025mg/mL) 10μL、超純水65μL、阻害剤サンプル5μL、[³H]cGMP 10μLを添加し、30℃にて30分間反応した。反応終了後、SPA beads溶液 (18mg/mL Yttrium silicate beads、18mM ZnSO₄) 50μLを添加し、約20分間、室温で放置した後、シンチレーションカウンター (Topcount、パッカード社) を用いて測定した。無添加の場合の放射活性 (1780cpm) に対し、組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼVを添加した場合は、10367cpmの放射活性を示した。この反応に各種濃度のホスホジエステラーゼVの阻害剤であるシルデナフィル (Drugs of Future22 (2)、1997) を添加することによりホスホジエステラーゼ活性は阻害され、シルデナフィルは約2nMでこの酵素反応を50%阻害した。このことから、本アッセイ系を用いて、ホスホジエステラーゼ阻害剤の探索が可能であることを確認した。

【0035】(6) 阻害剤探索の実施

上記(5)で設定した方法を用いて、本発明の生薬の組換え型ヒト肺由来ホスホジエステラーゼ阻害活性を測定した。その結果を表1に示す。

【表1】

生薬名	阻害率(%)		
	5mg/mL	0.5mg/mL	0.05mg/mL
インヨウカク	102.9	107.5	99.2
エゾウコギ	109.8	100.4	64.1
オウゴン	113.1	111.2	98.7
オウバク	111.5	102.9	90.0
カイクジン	111.8	103.7	53.0
カイバ	109.8	96.0	61.8
ガラナ	114.9	109.1	86.9
カンゾウ	108.9	107.3	89.1
コトウニン	113.1	107.1	90.4
サヨウ	109.7	105.0	57.6
サンシシ	110.9	94.8	52.6
ジャカンゾウ	104.9	106.6	88.7
ジャショウシ	114.9	110.0	98.3
ジョテイシ	114.9	105.9	75.0
ソウヒョウショウ	107.7	101.3	59.8
チクセツニンジン	111.7	108.4	66.2
チモ	108.7	98.2	55.7
トウドツカツ	110.6	99.3	64.6
トチュウヨウ	113.1	97.7	53.0
フクボンシ	112.7	109.6	92.6
ホコツシ	114.9	107.8	92.2
ヤクチニン	112.3	109.0	72.2
マオウ	95.4	89.5	25.0
サイシン	88.1	55.8	12.8
カンショウキョウ	99.5	83.8	24.1
ソヨウ	94.5	78.9	26.5
ケイヒ	104.9	106.4	51.9
ガイヨウ	103.7	95.4	59.1
ワコウボク	101.9	78.6	36.0
カラコウボク	100.8	87.8	29.2
チクヨウ	94.7	58.4	18.3
チクジョ	91.8	93.0	28.7
コウブシ	104.2	90.2	49.2
ゴシュユ	100.6	92.1	58.1
オウレン	106.2	97.6	75.9
キジツ	101.5	65.2	23.1

【0036】

【発明の効果】本発明の生薬は、優れたcGMP-PDE阻害活性を有しており、cGMP-PDEに起因する循環器系疾患（狭心症、高血圧、うっ血性心不全、肺高血圧症、アテローム性動脈硬化症、血管開存性低下症、血管狭窄症、末梢血管疾患、脳卒中など）、閉塞性肺疾患（慢性喘息、気管支炎など）、アレルギー性疾患（アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、蕁麻疹など）、消化管の運動

性に特徴づけられる疾患（過敏性腸症候群など）、性的機能障害（勃起機能不全、雌性機能不全など）、糸球体疾患、尿管間質性疾患、腎不全、糖尿病合併症、緑内障、早産または月経困難症など種々の疾患機能不全の予防・治療剤として使用することが出来る。

【0037】

【配列表】

<110> Takeda Chemical Industries, LTD.

<120> cGMP-PDE inhibitor and medicine for treatment of sexual dysfunction

<130> A99041

<160> 2

<210> 1

<211> 833

<212> PRT

<213> Human

<400> 1

Met Leu Pro Phe Gly Asp Lys Thr Arg Glu Met Val Asn Ala Trp Phe
1 5 10 15
Ala Glu Arg Val His Thr Ile Pro Val Cys Lys Glu Gly Ile Arg Gly
20 25 30
His Thr Glu Ser Cys Ser Cys Pro Leu Gln Gln Ser Pro Arg Ala Asp
35 40 45
Asn Ser Val Pro Gly Thr Pro Thr Arg Lys Ile Ser Ala Ser Glu Phe
50 55 60
Asp Arg Pro Leu Arg Pro Ile Val Val Lys Asp Ser Glu Gly Thr Val
65 70 75 80
Ser Phe Leu Ser Asp Ser Glu Lys Lys Glu Gln Met Pro Leu Thr Pro
85 90 95
Pro Arg Phe Asp His Asp Glu Gly Asp Gln Cys Ser Arg Leu Leu Glu
100 105 110
Leu Val Lys Asp Ile Ser Ser His Leu Asp Val Thr Ala Leu Cys His
115 120 125
Lys Ile Phe Leu His Ile His Gly Leu Ile Ser Ala Asp Arg Tyr Ser
130 135 140
Leu Phe Leu Val Cys Glu Asp Ser Ser Asn Asp Lys Phe Leu Ile Ser
145 150 155 160
Arg Leu Phe Asp Val Ala Glu Gly Ser Thr Leu Glu Glu Val Ser Asn
165 170 175
Asn Cys Ile Arg Leu Glu Trp Asn Lys Gly Ile Val Gly His Val Ala
180 185 190
Ala Leu Gly Glu Pro Leu Asn Ile Lys Asp Ala Tyr Glu Asp Pro Arg
195 200 205
Phe Asn Ala Glu Val Asp Gln Ile Thr Gly Tyr Lys Thr Gln Ser Ile
210 215 220
Leu Cys Met Pro Ile Lys Asn His Arg Glu Glu Val Val Gly Val Ala
225 230 235 240
Gln Ala Ile Asn Lys Lys Ser Gly Asn Gly Gly Thr Phe Thr Glu Lys
245 250 255
Asp Glu Lys Asp Phe Ala Ala Tyr Leu Ala Phe Cys Gly Ile Val Leu
260 265 270
His Asn Ala Gln Leu Tyr Glu Thr Ser Leu Leu Glu Asn Lys Arg Asn
275 280 285
Gln Val Leu Leu Asp Leu Ala Ser Leu Ile Phe Glu Glu Gln Gln Ser
290 295 300
Leu Glu Val Ile Leu Lys Lys Ile Ala Ala Thr Ile Ile Ser Phe Met
305 310 315 320
Gln Val Gln Lys Cys Thr Ile Phe Ile Val Asp Glu Asp Cys Ser Asp
325 330 335
Ser Phe Ser Ser Val Phe His Met Glu Cys Glu Glu Leu Glu Lys Ser
340 345 350
Ser Asp Thr Leu Thr Arg Glu His Asp Ala Asn Lys Ile Asn Tyr Met
355 360 365
Tyr Ala Gln Tyr Val Lys Asn Thr Met Glu Pro Leu Asn Ile Pro Asp
370 375 380
Val Ser Lys Asp Lys Arg Phe Pro Trp Thr Thr Glu Asn Thr Gly Asn
385 390 395 400

Val	Asn	Gln	Gln	Cys	Ile	Arg	Ser	Leu	Leu	Cys	Thr	Pro	Ile	Lys	Asn	405	410	415
Gly	Lys	Lys	Asn	Lys	Val	Ile	Gly	Val	Cys	Gln	Leu	Val	Asn	Lys	Met			
			420					425					430					
Glu	Glu	Asn	Thr	Gly	Lys	Val	Lys	Pro	Phe	Asn	Arg	Asn	Asp	Glu	Gln			
		435				440						445						
Phe	Leu	Glu	Ala	Phe	Val	Ile	Phe	Cys	Gly	Leu	Gly	Ile	Gln	Asn	Thr			
	450					455					460							
Gln	Met	Tyr	Glu	Ala	Val	Glu	Arg	Ala	Met	Ala	Lys	Gln	Met	Val	Thr			
465					470				475				480					
Leu	Glu	Val	Leu	Ser	Tyr	His	Ala	Ser	Ala	Ala	Glu	Glu	Glu	Thr	Arg			
			485					490					495					
Glu	Leu	Gln	Ser	Leu	Ala	Ala	Ala	Val	Val	Pro	Ser	Ala	Gln	Thr	Leu			
	500							505				510						
Lys	Ile	Thr	Asp	Phe	Ser	Phe	Ser	Asp	Phe	Glu	Leu	Ser	Asp	Leu	Glu			
	515						520					525						
Thr	Ala	Leu	Cys	Thr	Ile	Arg	Met	Phe	Thr	Asp	Leu	Asn	Leu	Val	Gln			
	530					535					540							
Asn	Phe	Gln	Met	Lys	His	Glu	Val	Leu	Cys	Arg	Trp	Ile	Leu	Ser	Val			
545				550					555				560					
Lys	Lys	Asn	Tyr	Arg	Lys	Asn	Val	Ala	Tyr	His	Asn	Trp	Arg	His	Ala			
			565					570				575						
Phe	Asn	Thr	Ala	Gln	Cys	Met	Phe	Ala	Ala	Leu	Lys	Ala	Gly	Lys	Ile			
		580						585				590						
Gln	Asn	Lys	Leu	Thr	Asp	Leu	Glu	Ile	Leu	Ala	Leu	Leu	Ile	Ala	Ala			
	595						600					605						
Leu	Ser	His	Asp	Leu	Asp	His	Arg	Gly	Val	Asn	Asn	Ser	Tyr	Ile	Gln			
	610					615						620						
Arg	Ser	Glu	His	Pro	Leu	Ala	Gln	Leu	Tyr	Cys	His	Ser	Ile	Met	Glu			
625				630					635				640					
His	His	His	Phe	Asp	Gln	Cys	Leu	Met	Ile	Leu	Asn	Ser	Pro	Gly	Asn			
			645					650				655						
Gln	Ile	Leu	Ser	Gly	Leu	Ser	Ile	Glu	Glu	Tyr	Lys	Thr	Thr	Leu	Lys			
		660						665				670						
Ile	Ile	Lys	Gln	Ala	Ile	Leu	Ala	Thr	Asp	Leu	Ala	Leu	Tyr	Ile	Lys			
	675					680						685						
Arg	Arg	Gly	Glu	Phe	Phe	Glu	Leu	Ile	Arg	Lys	Asn	Gln	Phe	Asn	Leu			
	690					695					700							
Glu	Asp	Pro	His	Gln	Lys	Glu	Leu	Phe	Leu	Ala	Met	Leu	Met	Thr	Ala			
705				710					715				720					
Cys	Asp	Leu	Ser	Ala	Ile	Thr	Lys	Pro	Trp	Pro	Ile	Gln	Gln	Arg	Ile			
			725					730				735						
Ala	Glu	Leu	Val	Ala	Thr	Glu	Phe	Phe	Asp	Gln	Gly	Asp	Arg	Glu	Arg			
	740						745					750						
Lys	Glu	Leu	Asn	Ile	Glu	Pro	Thr	Asp	Leu	Met	Asn	Arg	Glu	Lys	Lys			
	755						760					765						
Asn	Lys	Ile	Pro	Ser	Met	Gln	Val	Gly	Phe	Ile	Asp	Ala	Ile	Cys	Leu			
	770					775					780							
Gln	Leu	Tyr	Glu	Ala	Leu	Thr	His	Val	Ser	Glu	Asp	Cys	Phe	Pro	Leu			
785					790					795					800			

Leu Asp Gly Cys Arg Lys Asn Arg Gln Lys Trp Gln Ala Leu Ala Glu
805 810 815
Gln Gln Glu Lys Met Leu Ile Asn Gly Glu Ser Gly Gln Ala Lys Arg
820 825 830

Asn

[0038]

<210> 2

<211> 2499

<212> DNA

<213> Human

<400> 2

ATGTTGCCCT TTGGAGACAA AACAAAGAGAA ATGGTCAATG CATGGTTTGC TGAGAGAGTT 60
CACACCATCC CTGTGTGCAA GGAAGGTATC AGAGGCCACA CCGAATCTTG CTCTTGTCCC 120
TTGCAGCAGA GTCCTCGTGC AGATAACAGT GTCCCTGGAA CACCAACCAG GAAAATCTCT 180
GCCTCTGAAT TTGACCGGCC TCTTAGACCC ATTGTTGTCA AGGATTCTGA GGGAACTGTG 240
AGCTTCCTCT CTGACTCAGA AAAGAAGGAA CAGATGCCTC TAACCCCTCC AAGGTTTGAT 300
CATGATGAAG GGGACCAAGT CTCAAGACTC TTGGAATTAG TGAAGGATAT TTCTAGTCAT 360
TTGGATGTCA CAGCCTTATG TCACAAAATT TTCTTGATA TCCATGGACT GATATCTGCT 420
GACCGTATT CCCTGTTCTT TGTCTGTGAA GACAGCTCCA ATGACAAGTT TCTTATCAGC 480
CGCCTCTTTG ATGTTGCTGA AGGTTCAACA CTGGAAGAAG TTTCAAATAA CTGTATCCGC 540
TTAGAATGGA ACAAAGGCAT TGTGGGACAT GTGGCAGCGC TTGGTGAGCC CTTGAACATC 600
AAAGATGCAT ATGAGGATCC TCGGTTCAAT GCAGAAGTTG ACCAAATTAC AGGCTACAAG 660
ACACAAAGCA TTCTTTGTAT GCCAATTAAG AATCATAGGG AAGAGGTTGT TGGTGTAGCC 720
CAGGCCATCA ACAAGAAATC AGGAAACGGT GGGACATTTA CTGAAAAAGA TGAAGGAGAC 780
TTTGCTGCTT ATTTGGCATT TTGTGGTATT GTTCTTCATA ATGCTCAGCT CTATGAGACT 840
TCACTGCTGG AGAACAAGAG AAATCAGGTG CTGCTTGACC TTGCTAGTTT AATTTTTGAA 900
GAACAACAAT CATTAGAAGT AATTTGAAG AAAATAGCTG CCACTATTAT CTCTTTCATG 960
CAAGTGCAGA AATGCACCAT TTTCATAGTG GATGAAGATT GCTCCGATTG TTTTCTAGT 1020
GTGTTTCACA TGGAGTGTGA GGAATTAGAA AAATCATCTG ATACATTAA AAGGGAACAT 1080
GATGCAAACA AAATCAATTA CATGTATGCT CAGTATGTCA AAAATACTAT GGAACCACTT 1140
AATATCCAG ATGTCAGTAA GGATAAAGA TTTCCCTGGA CAACTGAAAA TACAGGAAAT 1200
GTAAACCAGC AGTGCATTAG AAGTTTGCTT TGTACACCTA TAAAAAATGG AAAGAAGAAT 1260
AAAGTTATAG GGGTTTGCCA ACTTGTTAAT AAGATGGAGG AGAATACTGG CAAGGTTAAG 1320
CCTTTCAACC GAAATGACGA ACAGTTTCTG GAAGCTTTTG TCATCTTTTG TGGCTTGGG 1380
ATCCAGAACA CGCAGATGTA TGAAGCAGTG GAGAGAGCCA TGGCCAAGCA AATGGTCACA 1440
TTGGAGGTTT TGTCTATCA TGCTTCAGCA GCAGAGGAAG AAACAAGAGA GCTACAGTCG 1500
TTAGCGGCTG CTGTGGTGCC ATCTGCCAG ACCCTTAAAA TTAGTACTT TAGCTTCAGT 1560
GACTTTGAGC TGTCTGATCT GGAAACAGCA CTGTGTACAA TTCGGATGTT TACTGACCTC 1620
AACCTTGTGC AGAAGTTCCA GATGAAACAT GAGGTTCTTT GCAGATGGAT TTTAAGTGTT 1680
AAGAAGAATT ATCGGAAGAA TGTGCTAT CATAATTGGA GACATGCCTT TAATACAGCT 1740
CAGTGCATGT TTGCTGCTCT AAAAGCAGGC AAAATTCAGA ACAAGCTGAC TGACCTGGAG 1800
ATACTTGCAT TGCTGATTGC TGCACTAAGC CACGATTGG ATCACCCTGG TGTGAATAAC 1860
TCTTACATAC AGCGAAGTGA ACATCCACTT GCCCAGCTTT ACTGCCATTC AATCATGGAA 1920
CACCATCATT TTGACCAGTG CCTGATGATT CTTAATAGTC CAGGCAATCA GATTCTCAGT 1980
GGCCTCTCCA TTGAAGAATA TAAGACCAGG TTGAAAAATA TCAAGCAAGC TATTTTAGCT 2040
ACAGACCTAG CACTGTACAT TAAGAGGCGA GGAGAATTTT TTGAAGTTAT AAGAAAAAAT 2100
CAATTCATT TGGAAGATCC TCATCAAAAG GAGTTGTTTT TGGCAATGCT GATGACAGCT 2160
TGTGATCTTT CTGCAATTAC AAAACCTGG CCTATTCAAC AACGGATAGC AGAAGTTGTA 2220
GCAACTGAAT TTTTGATCA AGGAGACAGA GAGAGAAAAG AACTCAACAT AGAAGCCACT 2280
GATCTAATGA ACAGGGAGAA GAAAAACAAA ATCCCAAGTA TGCAAGTTGG GTTCATAGAT 2340

GCCATCTGCT TGCAACTGTA TGAGGCCCTG ACCCAGGTGT CAGAGGACTG TTICCCTTTG 2400
 CTAGATGGCT GCAGAAAGAA CAGGCAGAAA TGGCAGGCC TTGCAGAACA GCAGGAGAAG 2460
 ATGCTGATTA ATGGGGAAG CGGCCAGGCC AAGCGGAAC 2499

【図面の簡単な説明】

【図 1】試験例で用いたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVのアミノ酸配列を示す。

【図 2】試験例で用いたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVのアミノ酸配列を示す。図 1 のつづきである。

【図 3】試験例で用いたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードするDNAを含むDNAの配列を示す。

【図 4】試験例で用いたヒト肺由来ホスホジエステラーゼVをコードするDNAを含むDNAの配列を示す。図 3 のつづきである。

【図 1】

Met Leu Pro Phe Gly Asp Lys Thr Arg Glu Met Val Asn Ala Trp Phe Ala Glu
 Arg Val His Thr Ile Pro Val Cys Lys Glu Gly Ile Arg Gly His Thr Glu Ser
 Cys Ser Cys Pro Leu Gln Gln Ser Pro Arg Ala Asp Asn Ser Val Pro Gly Thr
 Pro Thr Arg Lys Ile Ser Ala Ser Glu Phe Asp Arg Pro Leu Arg Pro Ile Val
 Val Lys Asp Ser Glu Gly Thr Val Ser Phe Leu Ser Asp Ser Glu Lys Lys Glu
 Gln Met Pro Leu Thr Pro Pro Arg Phe Asp His Asp Glu Gly Asp Gln Cys Ser
 Arg Leu Leu Glu Leu Val Lys Asp Ile Ser Ser His Leu Asp Val Thr Ala Leu
 Cys His Lys Ile Phe Leu His Ile His Gly Leu Ile Ser Ala Asp Arg Tyr Ser
 Leu Phe Leu Val Cys Glu Asp Ser Ser Asn Asp Lys Phe Leu Ile Ser Arg Leu
 Phe Asp Val Ala Glu Gly Ser Thr Leu Glu Glu Val Ser Asn Asn Cys Ile Arg
 Leu Glu Trp Asn Lys Gly Ile Val Gly His Val Ala Ala Leu Gly Glu Pro Leu
 Asn Ile Lys Asp Ala Tyr Glu Asp Pro Arg Phe Asn Ala Glu Val Asp Gln Ile
 Thr Gly Tyr Lys Thr Gln Ser Ile Leu Cys Met Pro Ile Lys Asn His Arg Glu
 Glu Val Val Gly Val Ala Gln Ala Ile Asn Lys Lys Ser Gly Asn Gly Gly Thr
 Phe Thr Glu Lys Asp Glu Lys Asp Phe Ala Ala Tyr Leu Ala Phe Cys Gly Ile
 Val Leu His Asn Ala Gln Leu Tyr Glu Thr Ser Leu Leu Glu Asn Lys Arg Asn
 Glu Val Leu Leu Asp Leu Ala Ser Leu Ile Phe Glu Glu Gln Gln Ser Leu Glu
 Val Ile Leu Lys Lys Ile Ala Ala Thr Ile Ile Ser Phe Met Gln Val Gln Lys
 Cys Thr Ile Phe Ile Val Asp Glu Asp Cys Ser Asp Ser Phe Ser Ser Val Phe
 His Met Glu Cys Glu Glu Leu Glu Lys Ser Ser Asp Thr Leu Thr Arg Glu His
 Asp Ala Asn Lys Ile Asn Tyr Met Tyr Ala Gln Tyr Val Lys Asn Thr Met Glu
 Pro Leu Asn Ile Pro Asp Val Ser Lys Asp Lys Arg Phe Pro Trp Thr Thr Glu

【図 2】

18 Asn Thr Gly Asn Val Asn Gln Gln Cys Ile Arg Ser Leu Leu Cys Thr Pro Ile 414
 36 Lys Asn Gly Lys Lys Asn Lys Val Ile Gly Val Cys Gln Leu Val Asn Lys Met 432
 54 Glu Glu Asn Thr Gly Lys Val Lys Pro Phe Asn Arg Asn Asp Glu Gln Phe Leu 450
 72 Glu Ala Phe Val Ile Phe Cys Gly Leu Gly Ile Gln Asn Thr Gln Met Tyr Glu 468
 90 Ala Val Glu Arg Ala Met Ala Lys Gln Met Val Thr Leu Glu Val Leu Ser Tyr 486
 108 His Ala Ser Ala Ala Glu Glu Glu Thr Arg Glu Leu Gln Ser Leu Ala Ala Ala 504
 126 Val Val Pro Ser Ala Gln Thr Leu Lys Ile Thr Asp Phe Ser Phe Ser Asp Phe 522
 144 Glu Leu Ser Asp Leu Glu Thr Ala Leu Cys Thr Ile Arg Met Phe Thr Asp Leu 540
 162 Asn Leu Val Gln Asn Phe Gln Met Lys His Gln Val Leu Cys Arg Trp Ile Leu 558
 180 Ser Val Lys Lys Asn Tyr Arg Lys Asn Val Ala Tyr His Asn Trp Arg His Ala 576
 198 Phe Asn Thr Ala Gln Cys Met Phe Ala Ala Leu Lys Ala Gly Lys Ile Gln Asn 594
 216 Lys Leu Thr Asp Leu Glu Ile Leu Ala Leu Leu Ile Ala Ala Leu Ser His Asp 612
 234 Leu Asp His Arg Gly Val Asn Asn Ser Tyr Ile Gln Arg Ser Glu His Pro Leu 630
 252 Ala Gln Leu Tyr Cys His Ser Ile Met Glu His His His Phe Asp Gln Cys Leu 648
 270 Met Ile Leu Asn Ser Pro Gly Asn Gln Ile Leu Ser Gly Leu Ser Ile Glu Glu 666
 288 Tyr Lys Thr Thr Leu Lys Ile Ile Lys Gln Ala Ile Leu Ala Thr Asp Leu Ala 684
 306 Leu Tyr Ile Lys Arg Arg Gly Gln Phe Phe Glu Leu Ile Arg Lys Asn Gln Phe 702
 324 Asn Leu Glu Asp Pro His Gln Lys Glu Leu Phe Leu Ala Met Leu Met Thr Ala 720
 342 Cys Asp Leu Ser Ala Ile Thr Lys Pro Trp Pro Ile Gln Gln Arg Ile Ala Glu 738
 360 Leu Val Ala Thr Glu Phe Phe Asp Gln Gly Asp Arg Glu Arg Lys Glu Leu Asn 756
 378 Ile Glu Pro Thr Asp Leu Met Asn Arg Glu Lys Lys Asn Lys Ile Pro Ser Met 774
 396 Gln Val Gly Phe Ile Asp Ala Ile Cys Leu Gln Leu Tyr Glu Ala Leu Thr His 792
 Val Ser Glu Asp Cys Phe Pro Leu Leu Asp Gly Cys Arg Lys Asn Arg Gln Lys 810
 Trp Gln Ala Leu Ala Glu Gln Gln Glu Lys Met Leu Ile Asn Gly Glu Ser Gly 828
 Gln Ala Lys Arg Asn 833

【図3】

ATG TTG CCC TTT GGA GAC AAA ACA AGA GAA ATG GTC AAT GCA TGG TTT GCT GAG
 AGA GTT CAC ACC ATC CCT GTG TGC AAG GAA GGT ATC AGA GGC CAC ACC GAA TCT
 TGC TCT TGT CCC TTG CAG CAG AGT CCT GGT GCA GAT AAC AGT GTC CCT GGA ACA
 CCA ACC AGG AAA ATC TCT GCC TCT GAA TTT GAC CGG CCT CTT AGA CCC ATT GTT
 GTC AAG GAT TCT GAG GGA ACT GTG AGC TTC CTC TCT GAC TCA GAA AAG AAG GAA
 CAG ATG CCT CTA ACC CCT CCA AGG TTT GAT CAT GAT GAA GGG GAC CAG TGC TCA
 AGA CTC TTG GAA TTA GTG AAG GAT ATT TCT AGT CAT TTG GAT GTC ACA GCC TTA
 TGT CAC AAA ATT TTC TTG CAT ATC CAT GGA CTG ATA TCT GCT GAC CGC TAT TCC
 CTG TTC CTT GTC TGT GAA GAC AGC TCC AAT GAC AAG TTT CTT ATC AGC CGC CTC
 TTT GAT GTT GCT GAA GGT TCA ACA CTG GAA GAA GTT TCA AAT AAC TGT ATC CGC
 TTA GAA TGG AAC AAA GGC ATT GTG GGA CAT GTC GCA GCG CTT GGT GAG CCC TTG
 AAC ATC AAA GAT GCA TAT GAG GAT CCT CGG TTC AAT GCA GAA GTT GAC CAA ATT
 ACA GGC TAC AAG ACA CAA AGC ATT CTT TGT ATG CCA ATT AAG AAT CAT AGG GAA
 GAG GTT GTT GGT GTA GCC CAG GCC ATC AAC AAG AAA TCA GGA AAC GGT GGG ACA
 TTT ACT GAA AAA GAT GAA AAG GAC TTT GCT GCT TAT TTG GCA TTT TGT GGT ATT
 GTT CTT CAT AAT GCT CAG CTC TAT GAG ACT TCA CTG CTG GAG AAC AAG AGA AAT
 CAG GTG CTG CTT GAC CTT GCT AGT TTA ATT TTT GAA GAA CAA CAA TCA TTA GAA
 GTA ATT TTG AAG AAA ATA GCT GCC ACT ATT ATC TCT TTC ATG CAA GTG CAG AAA
 TGC ACC ATT TTC ATA GTG GAT GAA GAT TGC TCC GAT TCT TTT TCT AGT GTG TTT
 CAC ATG GAG TGT GAG GAA TTA GAA AAA TCA TCT GAT ACA TTA ACA AGG GAA CAT
 GAT GCA AAC AAA ATC AAT TAC ATG TAT GCT CAG TAT GTC AAA AAT ACT ATG GAA
 CCA CTT AAT ATC CCA GAT GTC AGT AAG GAT AAA AGA TTT CCC TGG ACA ACT GAA
 AAT ACA GGA AAT GTA AAC CAG CAG TGC ATT AGA AGT TTG CTT TGT ACA CCT ATA
 AAA AAT GGA AAG AAG AAT AAA CTT ATA GGG GTT TGC CAA CTT GTT AAT AAG ATG

【図4】

54 GAG GAG AAT ACT GGC AAG GTT AAG CCT TTC AAC CGA AAT GAC GAA CAG TTT CTG 1350
 108 GAA GCT TTT GTC ATC TTT TGT GGC TTG GGG ATC CAG AAC ACG CAG ATG TAT GAA 1404
 162 GCA GTG CAG AGA GCC ATG GCC AAG CAA ATG GTC ACA TTG GAG GTT CTG TCG TAT 1458
 216 CAT CCT TCA GCA GCA GAG GAA GAA ACA AGA GAG CTA CAG TCG TTA CGC GCT CTT 1512
 270 GTG GTG CCA TCT GCC CAG ACC CTT AAA ATT ACT GAC TTT AGC TTC AGT GAC TTT 1566
 324 GAG CTG TCT GAT CTG GAA ACA GCA CTG TGT ACA ATT CGG ATG TTT ACT GAC CTC 1620
 378 AAC CTT GTG CAG AAC TTC CAG ATG AAA CAT GAG GTT CTT TGC AGA TGG ATT TTA 1674
 432 AGT GTT AAG AAG AAT TAT CGG AAG AAT GTT GCT TAT CAT AAT TGG AGA CAT GCC 1728
 486 TTT AAT ACA GCT CAG TGC ATG TTT GCT GCT CTA AAA GCA GGC AAA ATT CAG AAC 1782
 540 AAG CTG ACT GAC CTG GAG ATA CTT GCA TTG CTG ATT GCT GCA CTA AGC CAC GAT 1836
 594 TTG GAT CAC CGT GGT GTG AAT AAC TCT TAC ATA CAG CCA AGT GAA CAT CCA CTT 1890
 648 GCC CAG CTT TAC TGC CAT TCA ATC ATG GAA CAC CAT CAT TTT GAC CAG TGC CTG 1944
 702 ATG ATT CTT AAT AGT CCA GGC AAT CAG ATT CTC AGT GGC CTC TCC ATT GAA GAA 1998
 756 TAT AAG ACC ACG TTG AAA ATA ATC AAG CAA GCT ATT TTA GCT ACA GAC CTA GCA 2052
 810 CTG TAC ATT AAG AGG CGA GGA GAA TTT TTT GAA CTT ATA AGA AAA AAT CAA TTC 2106
 864 AAT TTG GAA GAT CCT CAT CAA AAG GAG TTG TTT TTG GCA ATG CTG ATG ACA GCT 2160
 918 TGT GAT CTT TCT GCA ATT ACA AAA CCC TGG CCT ATT CAA CAA CGG ATA GCA GAA 2214
 972 CTT GTA GCA ACT GAA TTT TTT GAT CAA GGA GAC AGA GAG AGA AAA GAA CTC AAC 2268
 1026 ATA GAA CCC ACT GAT CTA ATG AAC AGG GAG AAG AAA AAC AAA ATC CCA AGT ATG 2322
 1080 CAA GTT GGG TTC ATA GAT GCC ATC TGC TTG CAA CTG TAT GAG GCC CTG ACC CAC 2376
 1134 GTG TCA CAG GAC TGT TTC CCT TTG CTA GAT GGC TGC AGA AAG AAC AGC CAG AAA 2430
 1188 TGG CAG GCC CTT GCA GAA CAG CAG GAG AAG ATG CTG ATT AAT CGG GAA AGC GGC 2484
 CAG GCC AAG CGG AAC 2499

フロントページの続き

Fターム(参考) 4C088 AB04 AB12 AB16 AB17 AB18
 AB29 AB32 AB33 AB38 AB40
 AB41 AB51 AB59 AB60 AB62
 AB63 AB64 AB65 AB76 AB79
 AB81 AB85 AB99 AC04 AC05
 AC06 AC11 AC13 AD09 AD11
 AD13 BA03 BA06 BA07 BA08
 BA10 MA02 MA07 MA08 MA52
 NA14 ZA33 ZA34 ZA36 ZA40
 ZA42 ZA45 ZA54 ZA59 ZA66
 ZA81 ZA89 ZB13 ZC20

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.